



東北大学



報道機関 各位

平成21年4月28日

東北大学脳科学グローバルCOE
東北大学大学院生命科学研究科

「メラニン合成酵素」を輸送する新分子発見

— 新たな美白ターゲットとして期待 —

【ポイント】

- ・メラニン色素の合成には「メラニン合成酵素」のメラノソームへの輸送が重要
- ・「Varp」というタンパク質がメラニン合成酵素を輸送
- ・Varpを欠損するとメラニン合成酵素が細胞内から消失し、メラニン色素量が減少

【概要】

国立大学法人東北大学は、肌や髪を黒くするメラニン色素の合成に関わる酵素、「メラニン合成酵素」^{*1}の輸送を行う新しい分子を同定することに成功しました。これは、東北大学大学院生命科学研究科の田村可南子大学院生（修士課程）、大林典彦助教、福田光則教授らによる研究成果です。

わたしたちの肌や髪の色源であるメラニン色素は、「メラノサイト」と呼ばれる特殊な細胞でメラニン合成酵素によって合成され、「メラノソーム」と呼ばれる細胞内の袋（小胞）に貯蔵されています。メラニン色素を貯蔵したメラノソームは細胞内を移動し、肌や髪を作る細胞に受け渡されて、肌や髪が黒くなります。メラニン色素をメラノソームの中で合成し、貯蔵するためには、メラニン合成酵素をメラノソームに正しく輸送することが不可欠と考えられています。しかし、細胞内骨格（アクチン線維）によるメラノソーム自身の輸送機構^{*2}に比べ、メラニン合成酵素がどのような機構で合成場所からメラノソームまで輸送されるかは、これまで十分に解明されていませんでした。

今回、研究グループはマウスの培養メラノサイトを用いて、メラニン合成酵素の一種チロシナーゼ関連タンパク質1（Trp1）のメラノソームへの輸送過程に、「Varp（バープ）」^{*3}と呼ばれるRab（ラブ）38結合タンパク質^{*4}が関与することを突き止めました。Varpはメラノサイトの細胞内でRab38と共にメラニン合成酵素を含む小胞上に存在しており、その機能を特異的に阻害すると、メラニン合成酵素がメラノソーム上から消失するため、細胞内のメラニン色素量が顕著に減少することを見いだしました。すなわち、VarpはRab38と結合することにより、メラニン合成酵素を含む小胞をメラノソームへ輸送する過程に関与することがはじめて明らかになりました。

本研究成果は、Varpの機能を阻害あるいは安定化するような薬剤のスクリーニングに応用することが可能であり、今後、メラニン合成酵素の輸送を人為的に制御することによって、肌の美白の維持や白髪予防につながる可能性が期待できます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Molecular Biology of the Cell*』に近く掲載されます。

【背景】

わたしたちの肌や髪の毛に含まれるメラニン色素は、有害な紫外線から体を守るために重要な役割を果たしていますが、一方でしみやそばかすの原因ともなっています。メラニン色素は、メラノサイトに存在するメラノソーム（小胞の一種）の中で、メラニン合成酵素によって合成・貯蔵されます。メラニン合成酵素^{*1} ははじめからメラノソームに存在するわけではなく、タンパク質合成後、プレメラノソームと呼ばれる未成熟メラノソームに後から輸送されます（図1上、青矢印）。つまり、メラニン色素を正しく合成するためには、メラニン合成酵素をメラノソームに輸送するプロセスが重要です。実際、ヒトやマウスの遺伝病の中にはこのメラニン合成酵素の輸送に異常が起こり、肌や髪の毛が白くなる病気が知られています。今回研究グループが着目した低分子量Gタンパク質の一つRab38も、その変異により毛の色素が減少することが2002年に明らかになっていましたが、Rab38がどのようにしてメラニン合成酵素の輸送を制御するのかといった分子メカニズム（すなわちエフェクター^{*4}と呼ばれるRab38以降の下流の因子）はこれまで全く解明されていませんでした。

【研究成果】

本研究ではまず、培養メラノサイト（マウス melan-a 細胞）に存在するRab38エフェクター分子の探索を行い、Varpと呼ばれるRab38結合タンパク質を分子生物学的手法及び生化学的手法により同定しました。次に、RNA干渉法^{*5}を用いてメラノサイトに内在性のVarp分子の発現を細胞レベルで特異的にノックダウンすることにより、メラニン合成酵素（Trp1）の輸送に対する影響を検討しました。その結果、以下のことを明らかにすることができました（図2及び図3）。

1. Varp分子はRab38とメラノサイトの細胞内で複合体を形成して存在しており、蛍光顕微鏡の観察により、この複合体がメラニン合成酵素を含む小胞上に存在することが初めて明らかになりました。
2. Varp分子を欠損するメラノサイトでは、メラニン合成酵素が細胞内から消失するという非常に興味深い結果がえられました（図2中央、矢印の細胞）。これはVarp分子が無いために、メラニン合成酵素をメラノソームに正しく輸送することができず、輸送されなかった分子が細胞内でタンパク質分解酵素により分解されてしまったためと考えられます。
3. Varp欠損メラノサイトでは、メラニン合成酵素がメラノソーム上から消失するため、メラニン色素を合成できず細胞内の総メラニン色素量が顕著に減少することが明らかになりました（図3）。

以上の結果から、VarpはRab38のエフェクター分子として機能し、メラニン合成酵素を含む小胞をメラノソームに輸送し、メラノソームを黒くするのに必須の役割を果たすことが明らかになりました（図1下）。低分子量Gタンパク質Rabはヒトにおいて60種類以上存在しますが、それぞれのRabがどのようなエフェクター分子を用いるのかはまだ十分に解明されておらず、今回の研究成果はRabによる小胞輸送制御を理解する上でも重要な発見と考えられます。

【今後の展開】

紫外線を浴びると私達の体内ではメラニン合成酵素が活性化され、合成されたメラニン色素が皮膚に沈着し日焼け、しみ、そばかすが発生します。肌の美白維持に関する現在の研究の主流はメラニン合成酵素の活性を抑え、メラニン色素の合成レベルを抑えるような薬の開発です。しかし今回の研究により、Varpを対象としたメラニン合成酵素の輸送レベルでも肌や髪の毛の暗色

化の制御が可能と考えられます。今後、Varp 分子の機能を阻害あるいは安定化するような薬の開発が進むことが期待されます。

※本研究成果は、文部科学省新学術領域研究ロジスティクス「リソソーム関連オルガネラの細胞内動態とその破綻による疾患発症の分子基盤」（研究代表者：福田光則 東北大学大学院生命科学研究科教授）、同省グローバル COE プログラム（脳神経科学を社会に還流する教育研究拠点、代表者：大隅典子 東北大学大学院医学系研究科教授）、及び加藤記念バイオサイエンス研究振興財団・研究助成金「新規 Rab32/38 結合蛋白質によるメラノソーム成熟機構の解析」（研究代表者：福田光則）によるものです。

【図及び説明】

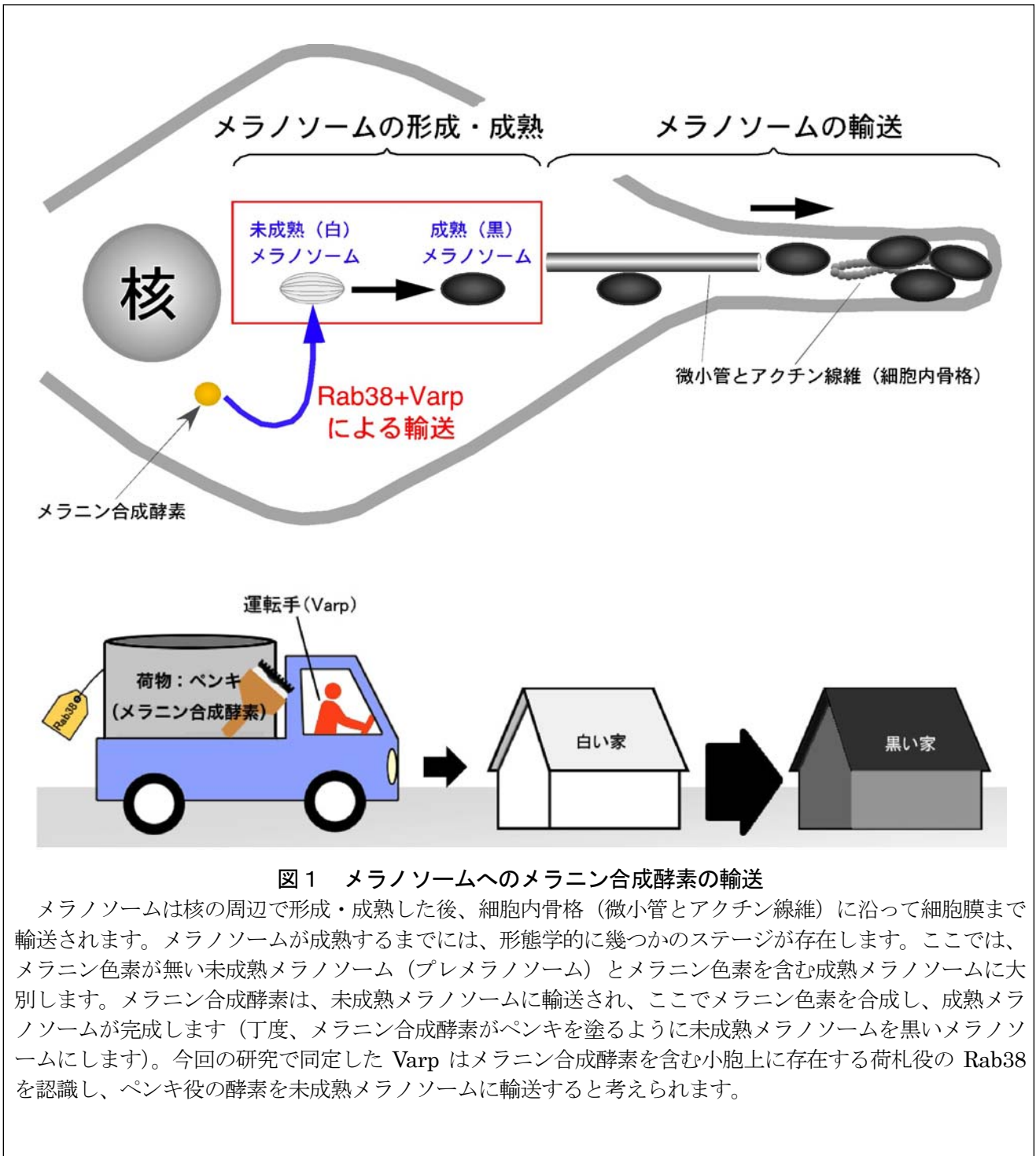


図1 メラニソームへのメラニン合成酵素の輸送

メラニソームは核の周辺で形成・成熟した後、細胞内骨格（微小管とアクチン線維）に沿って細胞膜まで輸送されます。メラニソームが成熟するまでには、形態学的に幾つかのステージが存在します。ここでは、メラニン色素が無い未成熟メラニソーム（プレメラニソーム）とメラニン色素を含む成熟メラニソームに大別します。メラニン合成酵素は、未成熟メラニソームに輸送され、ここでメラニン色素を合成し、成熟メラニソームが完成します（丁度、メラニン合成酵素がペンキを塗るように未成熟メラニソームを黒いメラニソームにします）。今回の研究で同定した Varp はメラニン合成酵素を含む小胞上に存在する荷札役の Rab38 を認識し、ペンキ役の酵素を未成熟メラニソームに輸送すると考えられます。

緑色蛍光タンパク質 (GFP)

メラニン合成酵素 (Trp1)

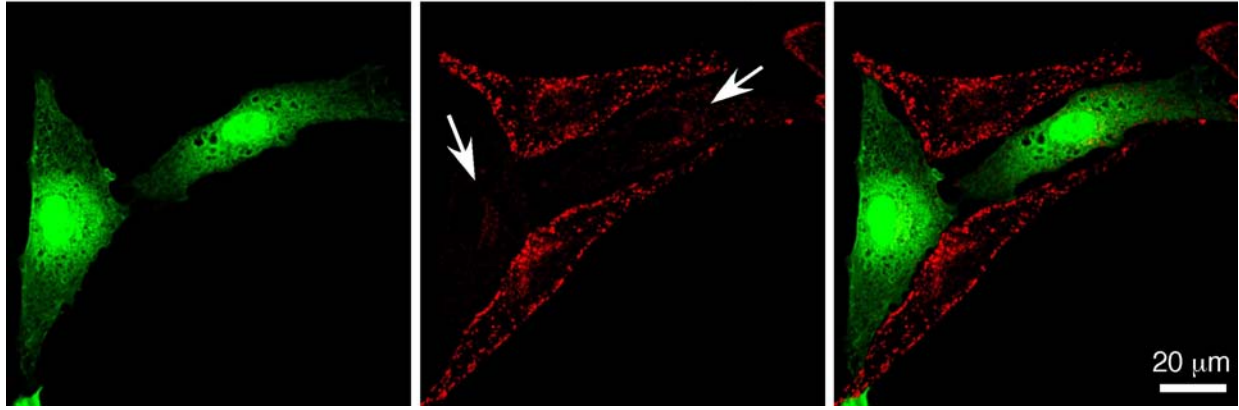


図2 Varp 欠損細胞におけるメラニン合成酵素の消失

Varp をノックダウンした細胞にはマーカーとして緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現させています (左図)。GFP を発現する細胞では、赤色に染色したメラニン合成酵素 (Trp1) のシグナルがほぼ消失しています (中央図、矢印の細胞)。右図は左と中央の図の重ね合わせを示しています。

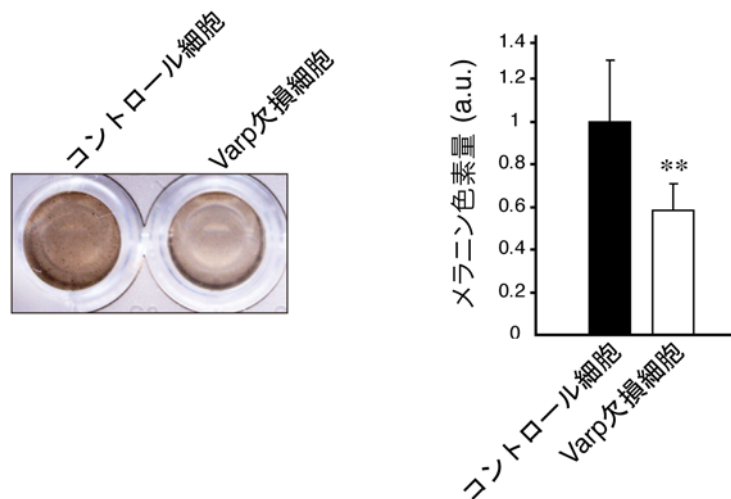


図3 Varp 欠損細胞におけるメラニン色素量の減少

Varp を欠損する細胞 (写真、右) では、コントロールの細胞に比べ (写真、左) 細胞抽出液中のメラニン色素量が顕著に減少します。右側の棒グラフは左側の写真の定量データを示しています。

【用語説明】

* 1 メラニン合成酵素

メラニン色素はチロシンというアミノ酸から複雑な酵素反応のステップを経て、メラノソームと呼ばれる小胞の中で合成されます。メラニン合成酵素としては、チロシナーゼ (Tyr)、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (Trp1)、チロシナーゼ関連タンパク質 2 (Trp2/Dct) の三種類が知られており、本研究では Trp1 の輸送に焦点を当てています。いずれのメラニン合成酵素も小胞体で合成され、ゴルジ体で糖鎖修飾を受けた後、未成熟メラノソームに輸送されると考えられていますが、その詳細な分子機構は十分に解明されていません。なお、ヒトの *TYR* 遺伝子や *TRP1* 遺伝子の変異により肌や髪から色素が欠乏する眼皮膚白皮症 I 型や III 型が発症することが知られています。

* 2 メラノソームの輸送機構

メラニン色素が合成される、メラノソームという小胞は、Rab27 というタンパク質を中心とした複合体の働きによって細胞内を移動し、肌や髪の毛の細胞に受け渡される仕組みが、近年明らかにされています。

プレスリリース (2004 年 11 月 15 日、及び 2008 年 10 月 8 日)

『メラニン色素』の輸送メカニズムを解明 -肌や髪の毛が黒くなる仕組み-

(<http://www.riken.jp/r-world/info/release/press/2004/041115/index.html>)

「メラニン色素」の輸送に必須のタンパク質複合体の構造決定

(<http://www.riken.jp/r-world/info/release/press/2008/081008/index.html>)

* 3 Varp (ヴァープ)

Varp (VPS9-ankyrin-repeat protein) は分子内に VPS9 ドメインと呼ばれる Rab の活性化ドメイン (グアニンヌクレオチド交換因子) とアンキリンリピートドメイン (さまざまなタンパク質で見られる、33 アミノ酸の繰り返し配列で、分子間・分子内の相互作用によって機能制御を行うとされています) を 2 個持つタンパク質です。本研究により、Varp は最初のアンキリンリピートドメインで活性化型の Rab38 (*4 参照) を結合することから、Rab38 のエフェクターとして機能することが明らかになりました。

* 4 低分子量 G タンパク質 Rab とエフェクター分子

メラノソームなどの小胞の輸送を適切に行うためには交通整理人 (制御タンパク質) の存在が不可欠です。この交通整理人の一つとして酵母から高等哺乳動物のヒトまで普遍的に存在しているのが低分子量 G タンパク質 Rab (ラブ) です。Rab は GTP というヌクレオチドを結合した活性化型と GDP を結合した不活性化型の二つの状態をとり、活性化型の GTP-Rab (例えば GTP-Rab38) がエフェクターと呼ばれる特異的なタンパク質 (Varp) と結合することにより小胞 (メラニン合成酵素) を輸送します。

ヒトには 60 種類以上の Rab が存在しており、それぞれが固有の小胞の輸送を制御すると考えられています。rab38 遺伝子を欠損する *chocolate* マウスでは毛の色素が欠乏することなどから、メラニン合成酵素の輸送への関与が示唆されていますが、メラノサイトで機能する Rab38 エフェクターが未同定なため、その輸送機構はこれまで解明されていませんでした。

* 5 RNA 干渉法

20 塩基程度の二本鎖 RNA を細胞内に発現させると、その配列と相補的な RNA のみが特異

的に分解され、その結果、目的のタンパク質の発現を特異的に抑制することができます (2006年度ノーベル医学生理学賞の対象となった現象)。

【論文題目】

Tamura, K., Ohbayashi, N., Maruta, Y., Kanno, E., Itoh, T. & Fukuda, M. (2009) Varp is a novel Rab32/38-binding protein that regulates Tyrp1 trafficking in melanocytes. *Mol. Biol. Cell*, in press

「Rab32/38 結合タンパク質 Varp によるメラニン合成酵素 Tyrp1 の輸送制御」

(お問い合わせ先)

東北大学大学院生命科学研究科

教授 福田 光則 (ふくだ みつのり)

電話番号： 022-795-7731

Eメール： nori@mail.tains.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学脳科学グローバルCOE

広報・コミュニケーション担当

長神 風二 (ながみ ふうじ)

電話番号： 022-717-7908

ファックス： 022-717-7923

Eメール： f-nagami@mail.tains.tohoku.ac.jp